猪肺炎支原体检测技术研究进展*

徐作波[1]，李九彬[2]，丁红雷[1**]

（1 西南大学动物科技学院兽医传染病学实验室 重庆 400715 2 西南大学附属中学 重庆 400700）

摘要 猪支原体肺炎（*Mycoplasma hyopneumoniae*，Mhp）是由猪肺炎支原体引起的一种存在于世界各地的严重危害养猪业的疾病，严重影响饲料报酬，造成巨大的经济损失。准确、敏感、快速的Mhp检测方法有助于了解Mhp在猪群的流行情况，进而采取相应的预防、治疗和综合防控措施。本文对国内外Mhp病原学、分子生物学和免疫学检测方法进行了综述，为科技工作者全面了解Mhp检测方法提供了参考资料。

关键词 猪肺炎支原体；检测；病原；分子生物学；ELISA

中图分类号 S852.62

猪支原体肺炎是养猪业中常见的传染病，由猪肺炎支原体（*Mycoplasma hyopneumonia*，Mhp）感染引起，具有发病率高、死亡率低的特点，主要造成饲料转化率降低和出栏时间延长，并继发其他病原感染，特别是猪圆环病毒2型、猪繁殖与呼吸系统综合征病毒、巴氏杆菌、链球菌等，形成猪呼吸道疾病综合征（Porcine respiratory disease complex，PRDC）[1-2]。根据流行病学调查结果，我国超过99%的猪场都存在Mhp感染。保守估计，猪支原体肺炎每年造成我国养猪业的直接经济损失超过100亿元[3]。建立准确、敏感、快速的Mhp检测方法有助于了解Mhp在猪群的流行情况，进而采取相应的预防、治疗和综合防控措施。本文对国内外Mhp病原学、分子生物学和免疫学检测方法进行了综述，为科技工作者全面了解Mhp检测方法提供了参考资料。

1 病原学检测

分离鉴定患病猪体内的Mhp是诊断猪支原体肺炎的“金标准”。Mhp是最难培养的支原体之一，其原因一是Mhp对营养要求高，在无细胞培养基中需要添加20%的猪血清才能生长；二是猪鼻支原体是猪体内的常在支原体，生长速度大大快于Mhp，因此在Mhp的分离培养中，常被猪鼻支原体的生长掩盖[4]。目前最常用的Mhp培养基包括Friis研制的Friis培养基[5-6]和江苏省农科院研制的江苏Ⅱ号（KM2）培养基[7]。在Friis培养基中添加丙酮酸盐，能够加快Mhp的生长速率[8]。近年来，又有实验室开发了改良Friis培养基[9]和改良KM2培养基[10]。与KM2培养基相比，改良KM2培养基能够增加Mhp的颜色改变单位（Colour change unit，CCU）[10]。在改良Friis培养基中添加2 μg/mL卡那霉素能够抑制猪鼻支原体的生长，但对Mhp的生长无显著影响[9]。本实验室的研究证明，在KM2

* 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项（cstc2015shmszx80033）资助项目。
**通讯作者，电子信箱 hongleiding@swu.edu.cn

培养基中添加 2 μg/mL 卡那霉素，Mhp 仍然能够生长，但生长速度略有下降（数据未公开）。整体来看，在分离过程中，Mhp 对培养基的营养要求高，分离时间长，特别是分离率低。因此，对猪支原体肺炎的确诊需要开发快速、简便的诊断方法。

2 分子生物学检测方法

2.1 普通 PCR 方法

PCR 技术由于其具有灵敏性和特异性高、操作快速简单、能迅速放大所检测基因等特点，在微生物病原的检测中广泛应用。自 PCR 第一次用于 Mhp 的诊断[11]，针对不同 Mhp 基因和不同检测目的的 PCR 诊断方法层出不穷。最开始的 PCR 检测方法主要是基于 Mhp 的 16S rRNA 序列，主要原因是当时缺少 Mhp 菌株的基因组信息，缺乏对 Mhp 特异性基因及其保守序列的了解[12-14]。但此时的 PCR 方法不但已经能检测纯培养物中的 Mhp，还能在有猪支原体肺炎症状的猪的鼻腔分泌物、支气管肺泡灌洗液和肺脏中检测 Mhp[13,15-17]，且最低检测限达到 $4×10^2$ 个病原[16]，基本能够满足临床需要。另外还有实验室开发了基于 16S rRNA 序列的区分 Mhp、猪鼻支原体和絮状支原体的多重 PCR 方法，这对于鉴定猪肺组织中的不同支原体提供了简便的鉴别方法[17]。还有实验室开发了基于 Mhp *P36* 和 *P46* 保守基因的 PCR 诊断方法，通过检测鼻腔、肺组织中的 Mhp 表明，*P36* 基因引物的敏感性和特异性均高于 *P46* 基因引物[4]。

2.2 巢式 PCR 方法

巢式 PCR 技术于 20 世纪末开始用于鼻腔分泌物、支气管肺泡细胞灌洗液和肺组织中 Mhp 的检测，其优点是检测下限低于普通 PCR，适合于临床样本中 Mhp 的检测[18-21]。如基于 Mhp16S rRNA 序列开发的巢式 PCR 检测技术，在鼻腔拭子中 Mhp 的检出率可达 61%，远远高于普通 PCR 的 3.6%，比普通 PCR 敏感 10^4 倍[20]。Stärk 开发的巢式 PCR 方法能检测有急性猪支原体肺炎发生的猪场空气样本中的 Mhp，这是普通 PCR 技术不能实现的[18]。Kurth 等[21]建立的巢式 PCR 方法，其检测下限可达到 1 个病原体。

该方法灵敏性极高，对活猪和死猪均能得到高效敏感的检测结果，所以可以用来评估猪场有无猪肺炎支原体感染。但是该方法对无菌操作要求较高，在检测 Mhp 时极易出现假阳性的结果。

2.3 荧光定量 PCR 方法

随着荧光定量 PCR 技术的普及，2004 年 Dubosson 等[22]也建立了基于重复序列和 ABC 转运体基因的 Mhp 荧光定量 PCR 检测方法。这两种方法的特异性均为 100%，且不会出现假阳性结果，检测下限能达到 1 fg 基因组 DNA。但在临床样品检测中，由于这两基因对应引物序列中多核苷酸多态性的存在，二者敏感性分别只有 50%和 70%，两种方法联合使用的敏感性也仅为 85%。因此，Strait

等[23]重新选择了 Mhp 的两个看家基因 *mhp165* 和 *mhp183*，建立了敏感性更高的检测 Mhp 的荧光定量 PCR 方法。采用这两个基因建立荧光定量 PCR 方法敏感性极高，特别是基于 *mhp165* 的方法，在 Mhp 感染猪的鼻拭子、支气管拭子和支气管肺泡灌洗液样品中均能检测到 Mhp 阳性。2010 年又有实验室建立了基于 *P46*、*P97* 和 *P102* 基因的多重荧光定量 PCR 方法[24]，该方法的敏感性明显高于 Calsamiglia 等[19]建立的巢式 PCR 方法，检测下限达到 1 个 Mhp。该方法是目前已知的最佳的临床样品中 Mhp 检测方法，广泛应用于临床样品中 Mhp 感染的检测[25-26]。

2.4 环介导等温扩增

环介导等温扩增（Loop-mediated isothermal amplification，LAMP）技术是 Notomi 等[27]开发的一种恒温条件下的核酸扩增技术，广泛应用于对细菌、病毒以及寄生虫等病原体的检测，具有操作简单、高敏感、特异性强的特点。Li 等[28]建立了一种检测 Mhp 的 LAMP 方法，该方法具有反应时间短（30 min 完成检测）、反应结果肉眼可见的优点，检测下限可达 10 个 Mhp 拷贝；但特异性低于荧光定量 PCR 方法，常常出现假阳性结果。该方法适合于临床样品的野外检测。

2.5 基因芯片

基因芯片（Gene chip）也称为 DNA 芯片（DNA chip），自上世纪 90 年代初美国 Affymetrix 公司的 Fodor 博士提出基因芯片技术以来，基因芯片技术呈爆炸式发展。基因芯片用于病原微生物鉴定，不仅可以通过荧光信号对待检样品进行定性或定量分析，而且具有 PCR 的敏感性和简便性，还能在同一试验中同时分析目标微生物的多个基因或同一基因的多段序列，克服因 PCR 的非特异结果。2016 年，保雨建立一种可同时检测 PRDC 六种病原的基因芯片检测方法，使用该方法检测临床样品中的 Mhp，检出率高于某 Mhp 检测的地方标准[29]。该方法的优点是能同时检测多种病原，但也存在检测成本高的问题，仅适合于不太考虑检测成本的检验检疫机构应用。

表 1 猪肺炎支原体各种 PCR 检测技术比较

Table 1 Comparison of reported PCR-based techniques used to detect *Mycoplasma hyopneumoniae*

PCR 类型	目的基因	检测下限	基因大小（bp）	临床样本类型	参考文献
普通 PCR	*16S rRNA*	4×10^2 个细胞	520	鼻腔分泌物、支气管肺泡灌洗液和肺脏	[11]
	16S rRNA	1000 个基因组	200	鼻腔分泌物、支气管肺泡细胞灌洗液和肺组织	[12]
	16S rRNA	5 CFU	649	鼻拭子	[13]
	P36	0.5-50 pg DNA	948	气管细支气管拭子、肺匀浆、鼻拭子	[4]
	P46	0.5 ng DNA	580	气管细支气管拭子、肺匀浆、鼻拭子	[4]
	ABC 转运体基因	500 fg DNA	1561	气管支气管灌洗液	[15]
巢式 PCR	MHYP1-03-950 重复序列	1 个细胞/过滤膜	808	过滤的空气	[18]
	16 S rRNA	80 个细胞	649	气管-支气管灌洗液、鼻拭子	[19]

	ABC 转运体基因	1 fg DNA	706	气管-支气管灌洗液、鼻拭子	[20]
	β 2-微球蛋白基因	0.5-1 fg DNA	240	气管- 支气管灌洗液、支气管肺泡灌洗液	[21]
	mhp165	5 fg/μL DNA	628	鼻拭子	[23]
多重 PCR	*P36*、*P46*	未给出	948 和 580	气管细支气管拭子、肺匀浆、鼻拭子	[4]
荧光定量 PCR	ABC 转运体基因	1 fg DNA	706	支气管拭子	[22]
	MHYP1-03-950 重复序列	1 fg DNA	808	支气管拭子	[22]
	mhp165	2.5 fg/μL DNA	132	鼻拭子	[23]
	mhp183	2.5 fg/μL DNA	90	鼻拭子	[23]
	P46、*P97*、*P102*	1.3 fg/μL DNA	150、101 和 137	鼻腔、扁桃体、气管和肺组织	[24]
LAMP	*mhp165*	10 fg DNA	240	鼻拭子、肺组织	[28]
基因芯片	*P46*	6.8×10³ 拷贝/μL	213	未给出	[29]

对于Mhp的分子生物学诊断，巢式PCR方法仍是一般实验室主要采用的方法，因为该方法特异性和灵敏性都较普通PCR方法高，且成本低于荧光定量PCR方法；对不太关注成本的实验室，可以采用荧光定量PCR方法缩短检测时间；环介导等温扩增技术适合于环境简陋的临床样品的野外检测。

3 血清学方法

用于 Mhp 血清学诊断的方法主要包括两种，补体结合试验（Complement fixation test，CFT）和酶联免疫吸附试验（Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA）。间接血凝试验（Indirect hemagglutination test，IHA）在上世纪 80 年代应用较多，但由于敏感性较低，现在已经很少应用。

3.1 补体结合试验

CFT 是利用抗原抗体复合物同补体结合，把含有已知浓度的补体反应液中的补体消耗掉使浓度减低的现象，以检出抗原或抗体的试验。CFT 在早期 Mhp 抗体的检测中是应用最广泛的血清学方法，利用此方法在 Mhp 感染两周后即能够检测到抗体[30]。但这种方法存在两个重要缺陷，一是与猪鼻支原体和其他猪源支原体抗体存在交叉反应[31-32]；二是检测的灵敏度较低，在 Mhp 感染 5 个月后就不能检测到抗体，采用 ELISA 方法则能在 Mhp 感染 1 年后仍然能检测到抗体[30]。另外该方法对热极其敏感，血清在 60℃处理 0.5 h，抗体滴度显著下降[31]。

3.2 酶联免疫吸附试验

ELISA 方法是临床应用最广泛的 Mhp 抗体检测方法。目前市场上最常用的是 IDEXX 公司开发的基于全细胞的 Mhp 间接 ELISA 抗体检测试剂盒和 Oxoid 公司生产的基于单抗的 Mhp 阻断 ELISA 抗体检测试剂盒。这两种试剂盒敏感性和特异性均较好，在 Mhp 感染猪只 28 d 后，用两种试剂盒均能在血清中检测到抗体，且二者对于 Mhp 慢性感染后血清抗体的检测效果相同；对于 Mhp 急性感

染，阻断 ELISA 试剂盒的敏感性优于间接 ELISA 试剂盒，检测到抗体的时间比间接 ELISA 试剂盒早 1-2 个星期[33]。

Feng 等[34]建立了分别基于 P97R1、P46 和 P36 蛋白的三种间接 ELISA 抗体检测方法。研究发现，三种方法在感染后 7 d 即能检测到血清中的 Mhp IgG 抗体，但基于 P97R1 蛋白的 ELISA 方法敏感性更高，在感染后 14 d 和 21 d 检测到抗体的血清样品数量更多。P97R1 ELISA 方法在感染后 4 d 能检测到 SIgA；P46 和 P36 ELISA 方法在感染后 6 d 能检测到 SIgA。因此，使用这三种检测方法，SIgA 比血清 IgG 的检出时间更早。并且，SIgA ELISA 检测方法还能区分灭活疫苗免疫和自然感染产生的 SIgA 抗体[35]。其不足之处是一是取样困难，鼻拭子样品采集过程中会令猪只感觉不适，造成较为激烈的反抗；二是采样过程不易标准化，影响结果判定。该试剂盒已经获得国家新兽药注册证书。

Liu 等[36]基于 P65 蛋白的单克隆抗体开发了检测血清 IgG 抗体的阻断 ELISA 方法。其特异性和敏感性与 IDEXX 公司的间接 ELISA 试剂盒相似，特异性达到 95.7%，敏感性达到 94.8%。Okada 等[32]建立了双抗夹心 ELISA 方法，该方法具有极高的特异性，不与絮状支原体、猪鼻支原体和猪滑液支原体血清发生交叉反应，但在 Mhp 人工感染 3 周后才能检测到血清抗体。

由于商品化的 ELISA 抗体检测试剂盒血清抗体检出时间较晚，SIgA 抗体检测中对于鼻腔分泌物采集困难且不易标准化，今后仍然需要寻找适合于 Mhp 血清抗体早期检测的靶标蛋白，进一步开发 Mhp 血清抗体早期检测试剂盒。

4 小结

目前的 Mhp 的三类检测方法各有优缺点，应根据不同的检测目的选择合适的检测方法。病原分离鉴定是 Mhp 检测的“金标准”，常常在 Mhp 病原学、流行病学研究和耐药性监测中使用。分子生物学检测方法较为敏感，适合于 Mhp 感染的早期诊断，但采样部位不同会影响检测结果，一般来说支气管肺泡灌洗液的 Mhp 检出率高于鼻拭子样品，且检出时间较早。最近研究证明，喉拭子样品中 Mhp 核酸的检出率高于鼻拭子和气管支气管灌洗液样品，检出时间早，口腔液样品的检出率最低[37]。血清学方法操作简单，但检出时间较分子生物学方法晚，不能区分是灭活疫苗免疫和自然感染产生的血清抗体。建立一种操作简单、能区分灭活疫苗免疫和自然感染的检测血清抗体的 ELISA 方法是现阶段 Mhp 检测中最迫切需要解决的问题。

参考文献

[1] Maes D, Segales J, Meyns T, et al. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae*, infections in pigs[J]. Vet Microbiol, 2008, 126(4): 297-309.

[2] Maes D, Sibila M, Kuhnert P, et al. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs:

Knowledge gaps for improved disease control[J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 1:110-124.

[3] 华利忠，邵国青，周勇岐．以疫苗免疫为核心的猪气喘病控制与净化技术[J]．中国兽药杂志，2012, 46(7): 50-53.

Hua L Z, Shao G Q, Zhou Y Q. Control and eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* based on vaccine immunization[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2012, 46 (7): 50-53.

[4] Caron J, Ouardani M, Dea S. Diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* infections in pigs by PCR amplification of the *p36* and *p46* genes[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(4): 1390-1396.

[5] Friis N. A selective medium for *Mycoplasma suipneumoniae*[J]. Acta Vet Scand, 1971, 12(3): 454-456.

[6] Friis N F. Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suipneumoniae* and *Mycoplasma flocculare* a survey[J]. Nord Vet Med, 1975, 27(6): 337-339.

[7] 江苏省农业科学研究所畜牧兽医研究室．猪气喘病病原体—猪肺炎支原体的分离和培养研究[J]．中国兽医科学, 1978, 1:17-20.

Laboratory of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Jiangsu Institute of Agricultural Sciences. Isolation and culture of *Mycoplasma hyopneumoniae*, pathogen of porcine enzootic pneumonia[J]. Chinese Vetrinary Science, 1978, 1: 17-20.

[8] Kamminga T, Slagman S J, Bijlsma J J E, et al. Metabolic modeling of energy balances in *Mycoplasma hyopneumoniae* shows that pyruvate addition increases growth rate[J]. Biotechnol Bioeng, 2017, 114(10): 2339-2347.

[9] Cook B S, Beddow J G, Manso-Silván L, et al. Selective medium for culture of *Mycoplasma hyopneumoniae*[J]. Vet Microbiol, 2016, 195:158-164.

[10] 李石，李吉力，周霞．猪肺炎支原体生长培养基的筛选[J]．黑龙江畜牧兽医, 2014, 18: 61-63.

Li S, Li J L, Zhou X. Screening of growth medium for *Mycoplasma hyopneumoniae* [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2014, 18: 61-63.

[11] Harasawa R, Koshimizu K, Takeda O, et al. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA by the polymerase chain reaction[J]. Mol Cell Probes, 1991, 5(2): 103-109.

[12] Stemke G W, Phan R, Young T F, et al. Differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. flocculare*, and *M. hyorhinis* on the basis of amplification of a 16S rRNA gene sequence[J]. Am J Vet Res, 1994, 55(1): 81-84.

[13] Mattsson J G, Bergström K, Wallgren P, et al. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nose swabs from pigs by in vitro amplification of the 16S rRNA gene[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(4): 893-897.

[14] Stemke G W. Gene amplification (PCR) to detect and differentiate mycoplasmas in porcine mycoplasmal pneumonia[J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 25(5): 327-330.

[15] Blanchard B, Kobisch M, Bové J M, et al. Polymerase chain reaction for *Mycoplasma hyopneumoniae* detection in tracheobronchiolar washings from pigs[J]. Mol Cell Probes, 1996, 10(1): 15-22.

[16] Baumeister A K, Runge M, Ganter M, et al. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in bronchoalveolar lavage fluids of pigs by PCR[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(7): 1984-1988

[17] Stakenborg T, Vicca J, Butaye P, et al. A multiplex PCR to identify porcine mycoplasmas present in broth cultures [J]. Vet Res Commun, 2006, 30(3): 239-247.

[18] Stärk K D C, Nicolet J, Frey J. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* by air sampling with a nested PCR assay[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(2): 543-548.

[19] Calsamiglia M, Pijoan C, Trigo A. Application of a nested polymerase chain reaction assay to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* from nasal swabs[J]. J Vet Diagn Invest, 1999, 11(3): 246-251.

[20] Verdin E, Saillard C, Labbé A, et al. A nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in tracheobronchiolar washings from pigs[J]. Vet Microbiol, 2000, 76(1): 31-40.

[21] Kurth K T, Hsu T, Snook E R, et al. Use of a *Mycoplasma hyopneumoniae* nested polymerase chain reaction test to determine the optimal sampling sites in swine[J]. J Vet Diagn Invest, 2002, 14(6): 463-469.

[22] Dubosson C R, Conzelmann C, Miserez R, et al. Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples[J]. Vet Microbiol, 2004, 102(1-2): 55-65.

[23] Strait E L, Madsen M L, Minion F C, et al. Real-time PCR assays to address genetic diversity among strains of *Mycoplasma hyopneumoniae*[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(8): 2491-2498.

[24] Marois C, Dory D, Fablet C, et al. Development of a quantitative real-time TaqMan PCR assay for determination of the minimal dose of *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 116 required to induce pneumonia in SPF pigs[J]. J Appl Microbiol, 2010, 108(5): 1523-1533.

[25] Arsenakis I, Panzavolta L, Michiels A, et al. Efficacy of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination before and at weaning against experimental challenge infection in pigs[J]. BMC Vet Res, 2016, 12: 63.

[26] Arsenakis I, Michiels A, Del Pozo Sacristán R, et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination at or shortly before weaning under field conditions: a randomised efficacy trial[J]. Vet Rec, 2017, 181(1): 19.

[27] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12):E63.

[28] Li Jia-he, Minion F C, Petersen A C, et al. Loop-mediated isothermal amplification for rapid and convenient detection of *Mycoplasma hyopneumoniae*[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2013, 29(4): 607-616.

[29] 保雨. 猪呼吸道疾病综合征六种病原基因芯片检测方法的建立[D]. 重庆：西南大学, 2016.

Bao Y. Development and preliminary application of oligonucleotide microarray for simultaneous detection of six pathogens causing porcine respiratory disease complex[D]. Chongqing: Southwest University, 2016.

[30] Bereiter M, Young T F, Joo H S, et al. Ross evaluation of the ELISA and comparison to the complement fixation test and radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibodies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine serum[J]. Vet Microbiol, 1990, 25(2-3):177-192.

[31] Roberts D H, Little T W. Serological studies in pigs with *Mycoplasma hyopneumoniae*[J]. J Comp Pathol, 1970, 80(2): 211-220.

[32] Okada M, Asai T, Futo S, et al. Serological diagnosis of enzootic pneumonia of swine by a double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay using a monoclonal antibody and recombinant antigen (P46) of *Mycoplasma hyopneumoniae*[J]. Vet Microbiol, 2005, 105(3-4) 251-259.

[33] Fano E, Pijoan C, Dee S, et al. Longitudinal assessment of two *Mycoplasma hyopneumoniae* enzyme-linked immunosorbent assays in challenged and contact-exposed pigs[J]. J Vet Diag Invest, 2012, 24(2): 383-387.

[34] Feng Z, Bai Y, Yao J, et al. Use of serological and mucosal immune responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* antigens P97R1, P46 and P36 in the diagnosis of infection[J]. Vet J, 2014, 202(1): 128-133.

[35] Feng Z, Shao G, Liu M, et al. Development and validation of a SIgA-ELISA for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection[J]. Vet Microbiol, 2010, 143(2-4): 410-416.

[36] Liu M, Du G, Zhang Y, et al. Development of a blocking ELISA for detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection based on a monoclonal antibody against protein P65[J]. J Vet Med Sci, 2016, 78(8): 1319-1322.

[37] Pietersa M, Danielsa J, Rovira A. Comparison of sample types and diagnostic methods for in vivo detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* during early stages of infection[J]. Vet Microbiol, 2017, 203: 103-109.

Research Progress in *Mycoplasma hyopneumonia* Detection Technology

XU Zuo-bo[1], LI Jiu-bing[2], DING Hong-lei[1]

(1 Laboratory of Veterinary Lemology, College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China)

(2 High School Affiliated to Southwest University, Chongqing 400700, China)

Abstract Mycoplasmal pneumonia of swine (MPS) is a severe respiratory disease of pig which is caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhp) worldwide. The disease decreased feed conversion efficiency causing significant economic loss. Accurate, sensitive and quick detection method is much helpful for understanding the prevalence of Mhp in pig farms, and also can improve the preventive and therapeutic measures, and management practice. In this review, we reviewed etiological, molecular biology, and serological detection methods of Mhp. We provide comprehensive data of Mhp detection methods for scientists.

Key Words *Mycoplasma hyopneumoniae* detection pathogen molecular biology ELISA